



## Extraction of bioactive components from moutan cortex and its activity evaluation

著者	? 国慶
内容記述	Thesis (Ph. D. in Biotechnology)--University of Tsukuba, (A), no. 5404, 2010.3.25 Includes bibliographical references (leaves 76-90)
発行年	2010
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/106259">http://hdl.handle.net/2241/106259</a>

氏 名 (本籍)	けい 国 慶 (中 国)
学 位 の 種 類	博 士 (生物工学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 5404 号
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	<b>Extraction of Bioactive Components from Moutan Cortex and its Activity Evaluation</b> (牡丹皮からの生理活性成分の抽出とその活性評価)
主 査	筑波大学教授 博士 (農学) 張 振 亜
副 査	筑波大学教授 農学博士 杉 浦 則 夫
副 査	筑波大学准教授 博士 (農学) 北 村 豊
副 査	筑波大学准教授 博士 (理学) 内 海 真 生

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

現在の医学界では、90%の病気に活性酸素が関与していることが明らかにされつつある。その代表的なのががんである。個人個人の健康増進管理のために、食生活の改善と同時に薬用植物、ハーブの利用が活発に行われている。牡丹皮 (Moutan cortex) とは、ボタンの根皮である。従来の研究は、主成分のペオノールが抗がん作用を持っていることを表明したが、他の成分、例えば、水溶性多糖類、配糖体類成分の抗がん作用に関する報告がほとんどない。本研究では、複合抽出法を利用して、牡丹皮の水溶性多糖類、ペオノール、および様々な配糖体類を抽出し、経済かつ効率的な抽出方法を確立した。抽出成分の SOD 様活性と DPPH ラジカル消去活性を評価し、比較して、抗酸化作用を確認した。大腸がん細胞 DLD-1 と子宮頸がん (しきゅうけいがん) 細胞 ME-180 を用いて、牡丹皮多糖類、ペオノールと配糖体類成分のがん細胞への増殖抑制作用及びアポトーシス誘導作用を評価し、比較を行った。

牡丹皮成分の複合抽出では、室温で振とう抽出法で水溶性の多糖類成分 (CPS) を抽出した。さらに残渣から、水蒸気蒸留法で、抽出して、留出液を 4℃ で、24 時間、置いて、結晶体のペオノール (Paeonol) を得た。抽出後の残渣から、80%のエタノールを用いて、100℃ で、還流抽出を行って、総配糖体類成分 (CTG) を得た。CPS、Paeonol 及び CTG の抽出収率はそれぞれ 1.42%、1.26% と 2.72% であった。CPS の多糖類含量はフェノール硫酸法で定量化された。グルコース相当量は 283.5 µg/mg CPS であった。牡丹皮抽出物の抗酸化活性を探るために、抽出物質の SOD 様抗酸化活性、DPPH ラジカル消去活性を測定した。ポリフェノール含量は、フォーリン・チオカルト試薬を用いて定量した。牡丹皮の三つの主成分では CTG が最も高いポリフェノール含量、SOD 様活性と DPPH ラジカル消去活性を示したことが明らかになった。ポリフェノールを豊富に含み、抗酸化活性が高いことが示唆された。ポリフェノールが活性の原因物質であることが推察された。DLD-1 細胞と ME-180 細胞における牡丹皮抽出物の抗がん作用を明白にするために、がん細胞生存率、蛍光染色でがん細胞のアポトーシス特徴形態の観察、蛍光染色で Flowcytometry (FCM) 分析によるアポトーシス誘導の定量化を行った。CPS、ペオノール及び CTG は二種類のがん細胞に対して濃度と時間依存的に細胞生存率を低下させることが明らかになった。ペオノールと CTG を添加した場合には、アポトー

シスに特徴的な細胞の形態が見つけられた。さらに、PI 単染色によるがん細胞のアポトーシス誘導の定量化を行った。ペオノール又は CTG を添加した 24、48 時間後にフローサイトメーターによりアポトーシスの変化を観察した。コントロールに比べ、ペオノール又は CTG で処理の細胞では、48 時間まで sub-G1 期分画の有意的な増加が見られた。時間と濃度依存的に増加したことが明らかになった。CTG のほうがより著しい効果を示し、高率にアポトーシスが誘導された。

本研究はがんの予防と治療のために新たな機能性食品と医薬品の開発へ繋げ、牡丹皮資源の利活用が期待できると考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

複合抽出法を利用して、牡丹皮の水溶性多糖類、ペオノール、および様々な配糖体類を抽出し、経済かつ効率的な抽出方法を確立した。抽出成分の抗酸化作用を確認した。牡丹皮活性成分のがん細胞への増殖抑制作用及びアポトーシス誘導作用を検討した。

抽出物質の SOD 様抗酸化活性、DPPH ラジカル消去活性とポリフェノール含量を測定した。牡丹皮の三つの主成分では CTG が最も高いポリフェノール含量、SOD 様活性と DPPH ラジカル消去活性を示したことが明らかになった。ポリフェノールを豊富に含み、抗酸化活性が高いことが示唆された。ポリフェノールが活性の原因物質であることが推察された。牡丹皮成分を添加して、がん細胞生存率、蛍光染色でがん細胞のアポトーシス特徴形態の観察、蛍光染色で Flowcytometry (FCM) 分析による牡丹皮成分アポトシス誘導の定量化を行った。CPS、ペオノール及び CTG は二種類のがん細胞に対して濃度と時間依存的に細胞生存率を低下させることが明らかになった。ペオノールと CTG を添加した場合には、アポトーシスに特徴的な細胞の形態が見つけられた。ペオノール又は CTG を添加した 24、48 時間後にフローサイトメーターによりアポトーシスの変化を観察したところ、コントロールに比べ、ペオノール又は CTG で処理の細胞では、48 時間まで sub-G1 期分画の有意的な増加が見られた。時間と濃度依存的に増加したことが明らかになった。CTG のほうがより著しい効果が示され、高効率にアポトーシスが誘導された。

本研究は牡丹皮資源の利活用により、がんの予防と治療のために新たな機能性食品と医薬品の開発につながる点をオリジナリティに富む研究として高く評価できる。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。